

BD Brucella Blood Agar with Hemin and Vitamin K1

BRUKSOMRÅDE

BD Brucella Blood Agar with Hemin and Vitamin K1 (Brucella blodagar med hemin og vitamin K1) er et svært næringsrikt medium for isolering og dyrking av strengt anaerobe organismer fra kliniske prøver.

PRINSIPPER FOR OG FORKLARING AV PROSEDYREN

Mikrobiologisk metode.

BD Brucella Blood Agar with Hemin and Vitamin K1 er en modifikasjon av Brucella Agar som er supplert med hemin og vitamin K1 for å støtte vekst av kresne anaerobe organismer, spesielt *Bacteroides*, *Prevotella*, og *Porphyromonas* når de inkuberes anaerobt.¹⁻³ Den brukes til isolering av strengt anaerobe organismer fra kliniske prøver. Den brukes også til følsomhetstesting av anaerobe organismer med E test[®]-metoden.⁴⁻⁶

In **BD Brucella Blood Agar with Hemin and Vitamin K1**, peptoner og gjærekstrakt sammen med glukose står for tilførsel av næring. Natriumhydrogensulfitt senker redokspotensialet til et område som passer for strengt anaerobe organismer. Det er vist at hemin og vitamin K1 er nødvendige for å støtte vekst av visse strengt anaerobe organismer.⁷ Saueblod står for ytterligere næringsmidler og benyttes til å påvise hemolytiske reaksjoner.

REAGENSER

BD Brucella Blood Agar with Hemin and Vitamin K1

Formulering* per liter renset vann

Nedbrutt kasein fra bukspyttkjertel	10,0 g
Peptider fra nedbrytning av dyrevev	10,0
Gjærekstrakt	2,0
Glukose	1,0
Natriumklorid	5,0
Natriumhydrogensulfitt	0,1
Hemin	0,005
Vitamin K1	0,01
Agar	15,0
Saueblod, defibrinert	5 %

pH 7,2 +/- 0,2

*Justert og/eller supplert etter behov for å oppfylle ytelseskriteriene.

FORSIKTIGHETSREGLER

IVD . Kun til profesjonell bruk. ⓧ

Platene må ikke brukes hvis de viser tegn på mikrobiell kontaminering, misfarging, uttørking eller sprekkdannelse eller har andre tegn til forringelse.

Se dokumentet **GENERELL BRUKSANVISNING** for informasjon om aseptisk håndtering, biologisk risiko og avhending av brukte produkter.

OPPBEVARING OG HOLDBARHET

Etter mottak skal platene oppbevares i mørke ved 2 til 8 °C i originalinnpakningen inntil like før de skal brukes. Unngå frysing og overoppheting. Platene kan inokuleres frem til utløpsdatoen (se etiketten på pakningen) og inkuberes i de anbefalte inkubasjonsperiodene.

Pleter fra åpne stabler på 10 plater kan brukes i én uke når de oppbevares på et rent sted ved 2 til 8 °C.

KVALITETSKONTROLL FOR BRUKERE

Inokuler representative prøver med følgende stammer (for mer informasjon, se dokumentet **GENERELL BRUKSANVISNING**). Inkuber i 48 til 72 timer i en anaerob atmosfære (f.eks. **BD GasPak** anaerobt system) ved 35 til 37 °C.

Stammer	Vekstresultater
<i>Bacteroides fragilis</i> ATCC 25285	God til fremragende vekst, grå kolonier
<i>Clostridium perfringens</i> ATCC 13124	God til fremragende vekst; store, lobate, grå-hvite kolonier; beta-hemolyse (dobbelsoner)
<i>Fusobacterium nucleatum</i> ATCC 25586	God til fremragende vekst, grå-hvite kolonier omgitt av mørkegrå soner
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i> ATCC 27337	God til fremragende vekst, hvitaktige kolonier
<i>Porphyromonas levii</i> ATCC 29147	Ganske god til god vekst, grå-hvite til grå-brune kolonier
Ikke-inokulert	Rød til mørkerød (blodfarget)

PROSEDYRE

Materialer som følger med

BD Brucella Blood Agar with Hemin and Vitamin K1 (90 mm **Stacker**-plater). Mikrobiologisk kontrollert.

Materialer som ikke følger med

Supplerende vekstmedier, reagenser og laboratorieutstyr etter behov.

Prøvetyper

BD Brucella Blood Agar with Hemin and Vitamin K1 er et universalmedium for isolering og dyrkning av strengt anaerobe organismer fra alle typer prøver (se også **YTELSESKARAKTERISTIKKER OG BEGRENSNINGER VED PROSEDYREN**). Benytt godkjente teknikker for valg, innhenting og transport av anaerobe prøver.⁸⁻¹⁰ Det må brukes egnede transportmedier, f.eks. **BD Port-A-Cul**.

BD Brucella Blood Agar with Hemin and Vitamin K1 brukes også til følsomhetstesting av strengt anaerobe organismer med E test, som krever bruk av rene kulturer.⁴⁻⁶

Testprosedyre

Stryk ut prøven rett etter mottak med en godkjent utstrykningsteknikk på **BD Brucella Blood Agar with Hemin and Vitamin K1**. Umiddelbart etter utstryking skal platene plasseres i anaerobe beholdere med anaerob atmosfære. Det anbefales å bruke **BD GasPak**-beholdere og **BD GasPak** H₂/CO₂-konvolutter sammen med en katalysator. Inkuber i 2 til 3 dager, eller lenger om nødvendig, ved 35 til 37 °C. Uansett hvilket anaerobt system som brukes, er det viktig å inkludere en indikator på anaerobiose, for eksempel **BD GasPak** engangsanaerobindikator. Hvis prøver som inneholder en blandet flora, blir strøket ut på mediet, anbefales det å inkludere også selektive medier, for eksempel **BD Schaedler Kanamycin-Vancomycin Agar with 5% Sheep Blood** (BD Schaedler kanamycin-vancomycin agar med 5 % saueblod) og/eller **BD Wilkins-Chalgren Agar with Amikacin and 7% Sheep Blood** (BD Wilkins-Chalgren agar med amikacin og 7 % saueblod). Det kan også finnes fakultativt anaerobe organismer i prøven. Derfor anbefales det alltid å inkludere et aerobt medium (for eksempel **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** (BD Columbia agar med 5 % saueblod)) når de primære kulturene blir etablert. Denne platen inkuberes aerobt anriket med karbondioksid sammen med de anaerobe kulturene.⁸ Dette gjør det mulig å påvise fakultative organismer i prøven.

For bruk av **BD Brucella Blood Agar with Hemin and Vitamin K1** i anaerob følsomhetstesting med E test, se referansene eller instruksjonene fra produsenten.⁴⁻⁶

Resultater

Etter inkubering skal skålene undersøkes for vekst. Kolonier som finnes på dette mediet, mistenkes å være strengt anaerobe organismer hvis de ikke vokser på aerobt inkuberte blodagarplater. Videre blir veksten på **BD Schaedler Kanamycin-Vancomycin Agar with 5%**

Sheep Blood sammenlignet med veksten på de andre mediene. Hvis det finnes blandede kulturer av strengt og fakultativt anaerobe organismer, må det dyrkes relevante subkulturer på ikke-selektive medier, inkubert aerobt og anaerobt, basert på de anaerobe mediene for å bekrefte at isolatet er strengt anaerobt.

Videre mikroskopiske og biokjemiske undersøkelser er nødvendige for identifikasjon av slekter og arter av de strengt anaerobe organismene. Se relevante tekster for ytterligere informasjon blant annet om identifiseringsprosedyrer.^{6, 8,9,11}

Når det gjelder avlesning av resultater av E test fra dette mediet, se referansene eller produsentens instruksjoner.⁴⁻⁶

YTELSESKARAKTERISTIKKER OG BEGRENSNINGER VED PROSEDYREN

På **BD Brucella Blood Agar with Hemin and Vitamin K1**, som er et av de ikke-selektive standardmediene for isolering av strengt anaerobe organismer, vil *Bacteroides*, *Prevotella*, *Porphyromonas*, *Fusobacterium*, *Clostridium*, *Peptostreptococcus*, strengt anaerobe ikke-sporerdannende staver (blant annet den tidligere slekten *Eubacterium*), *Mobiluncus*, *Actinomyces* og mange andre vokse.^{6,8-11}

Dessuten brukes den til følsomhetstesting med E test-metoden.⁴⁻⁶

Ytelsesresultater¹²

BD Brucella Blood Agar with Hemin and Vitamin K1 ble evaluert internt med kliniske isolater og samlingsstammer av de følgende strengt anaerobe artene og ble sammenlignet med **BD Schaedler Agar with Vitamin K1 and 5% Sheep Blood** (= referansemedium): *Bacteroides fragilis*, *B. distasonis*, *Prevotella bivia*, *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas levii*, *Porphyromonas gingivalis*, *Campylobacter (Bacteroides) gracilis*, *Peptostreptococcus anaerobius*, *Clostridium perfringens*, *Mobiluncus mulieris*, *Eggerthella lenta (Eubacterium lentum)*. Begge medier ble inokulert med 10^3 til 10^4 CFU per plate og ble inkubert anaerobt i 3 dager. Antallet kolonier på testmediet var det samme som eller høyere enn antallet på testreferansemediet for alle stammene som ble testet.

Begrensninger ved prosedyren

Vær oppmerksom på at vekstratene til strengt anaerobe organismer varierer betydelig: Mens *Bacteroides fragilis* vokser godt etter 24 timer, trenger *Mobiluncus* eller stammer av *Porphyromonas* 4 til 5 dager, og *Actinomyces* kan trenge 1 til 3 uker for å danne godt synlige kolonier. Hvis kulturer er negative etter 2 eller 3 dagers inkubering, skal de inkuberes på nytt anaerobt i ytterligere 2 til 3 dager. Hvis *Actinomyces* mistenkes, skal egne kulturplater med dette og andre medier (f.eks. **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood**) inokuleres og inspiseres etter 1, 2 og endelig 3 ukers inkubering.

Dette mediet er ikke spesifikt selektivt for strengt anaerobe organismer. Fakultative organismer vil også vokse. Det er derfor viktig å sammenligne resultatet av den anaerobe kulturen med resultatet av en aerobt inkubert plate hvis det forekommer blandede kulturer.

REFERANSER

1. MacFaddin, J.F. 1985. Media for isolation cultivation-identification-maintenance of medical bacteria, vol. I. Williams & Wilkins, Baltimore.
2. Gibbons, R.J., and J.B. MacDonald. 1960. Hemin and vitamin K compounds as required factors for the cultivation of certain strains of *Bacteroides melaninogenicus*. J. Bacteriol. 80:164-170.
3. Finegold, S.M., V.L. Sutter, H.R. Attebery, and J.E. Rosenblatt. 1974. Isolation of anaerobic bacteria, p. 368. In E.H. Lennette, E.H. Spaulding, and J.P. Truant (ed.), Manual of clinical microbiology, 2nd ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
4. Citron, D.M., et al. 1991. Evaluation of the E test for susceptibility testing of anaerobic bacteria. J. Clin. Microbiol. 29: 2197-2203.
5. Church, D.L., et al. 1996. Metronidazole susceptibility and the presence of hydrogenase in pathogenic bacteria.
6. Citron, D.A., and D.W. Hecht. 2003. Susceptibility test methods: anaerobic bacteria. In: Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Tenover (ed.). Manual of clinical microbiology, 8thed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.

7. Gibbons, R.J., and J.B. MacDonald. 1960. Hemin and vitamin K compounds as required factors for the cultivation of certain strains of *Bacteroides melaninogenicus*. J. Bacteriol. 80:164-170.
8. Engelkirk, P.G., J. Duben-Engelkirk, and V.R. Dowell, Jr. 1992. Principles and practice of clinical anaerobic bacteriology. Star Publishing Co., Belmont, Calif.
9. Summanen, P., E.J. Baron, D.M. Citron, C.A. Strong, H.M. Wexler, and S.M. Finegold. 1993. Wadsworth anaerobic bacteriology manual, 5th ed. Star Publishing Co., Belmont, Calif.
10. Murray, P.R., and D.M. Citron. 1991. General processing of specimens for anaerobic bacteria. In: A. Balows, W.J. Hausler, Jr., K.L. Herrmann, H.D. Isenberg, and H.J. Shadomy (ed.), Manual of clinical microbiology, 5th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
11. Murray, P.R., E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, and R.H. Tenover (ed.). 1995. Manual of clinical microbiology, 6th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
12. Data i arkiv. BD Diagnostic Systems Europe. Heidelberg, Tyskland.

FORPAKNING/TILGJENGELIGHET

BD Brucella Blood Agar With Hemin And Vitamin K1

Kat. nr. 255509

Ferdiglagde skålmedier, 20 stk.

FLERE OPPLYSNINGER

Ta kontakt med din lokale BD-representant for mer informasjon.



Becton Dickinson GmbH

Tullastrasse 8 – 12

D-69126 Heidelberg/Germany

Phone: +49-62 21-30 50 Fax: +49-62 21-30 52 16

Reception_Germany@europe.bd.com

<http://www.bd.com>

<http://www.bd.com/europe/regulatory/>

E test er et registrert varemerke som tilhører AB Biodisk, Solna, Sverige

ATCC er et varemerke som tilhører American Type Culture Collection

BD, BD-logoen og alle andre varemerker tilhører Becton, Dickinson and Company. © 2011 BD